DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1
مقاله پژوهشی

تاثیر همزیستی با قارچ میکوریز گلوموس موسهآ (*Glomus mosseae*) بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی دو رقم گیاه برنج در شرایط کم آبی

آرزو پورفرید[۱]، علی پاکدین پاریزی[۱*]، رضا قربانی نصرآبادی[۲] و حشمت الله رحیمیان[۳]

[۱] ایران، ساری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان

[۲] ایران، گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده مهندسی آب و خاک، گروه علوم خاک

[۳] ایران، ساری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، دانشکده علوم زراعی، گروه گیاهپزشکی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۳

چکیده

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار قادر به کاهش اثرات نامطلوب تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاهان زراعی می‌باشند. برای بررسی تاثیر تلقیح با قارچ میکوریز آربوسکولار گلوموس موسهآ بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی رقم‌های برنج طارم هاشمی و نعمت در شرایط کمبود آب، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی و در گلخانه انجام شد. شرایط آبیاری شامل آبیاری غرقاب، توقف آبیاری تا رطوبت ٪۷۰ ظرفیت زراعی و توقف آبیاری تا رطوبت ۵۰٪ ظرفیت زراعی بود. بطور کلی در هر دو گروه گیاهان تلقیح شده با قارچ و گیاهان شاهد (تلقیح نشده) افزایش میزان فنل، تانن، گلایسین‌بتائین و نیز آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز تحت شرایط کم‌آبی مشاهده شد. با این وجود میزان تغییر در گیاهان تلقیح‌شده با میکوریز نسبت به گیاهان شاهد بطور معنی‌داری بیشتر بود. در شرایط قطع آبیاری تا ٪۷۰ ظرفیت زراعی میزان پرولین و آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز در رقم نعمت نسبت به رقم طارم‌هاشمی بیشتر بود، اما گلایسین‌بتائین، تانن و فنل در رقم طارم‌هاشمی از نعمت بیشتر بود. در شرایط قطع آبیاری تا ٪۵۰ ظرفیت زراعی محتوای هر کدام از صفات اندازه‌گیری شده در رقم نعمت نسبت به طارم‌هاشمی بیشتر بود که می‌تواند بر تاثیر متفاوت کلونیزاسیون با قارچ‌های میکوریز بر پاسخ ارقام برنج به شرایط کمبود آب دلالت داشته باشد. براساس نتایج بدست آمده به‌نظر می‌رسد که تلقیح گیاه برنج با قارچ میکوریز می‌تواند در صورت بروز شرایط کمبود آب در حین مراحل حساس رشدی گیاه در کاهش اثرات نامطلوب تنش نقش داشته باشد.

واژه های کلیدی: برنج، تنش آبی، میکوریز آربوسکولار، اسمولیت‌های آلی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۲۷۹۹۱۶۴، پست الکترونیکی: a.pakdin@sanru.ac.ir

مقدمه

برنج (*Oryza sativa*) متعلق به جنس اُریزا و خانواده پوآسه (Poaceae) با ۲۲ گونه شناخته شده است که از نظر اقتصادی اهمیت بسیار زیادی دارد[۱۱]. این غله غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان بوده و بالغ بر ۳/۵ میلیارد نفر در دنیا ۲۰ درصد از کالری روزانه خود را از برنج تامین می‌کنند. با وجود نیاز روزافزون به افزایش تولید مواد غذایی، امکان گسترش مناطق زیر کشت برنج به دلیل گسترش و توسعه نواحی شهری و صنعتی در آسیا که در حال حاضر هم با کمبود زمین روبرو است و هزینه بالای توسعه اراضی جدید در کشورهای جنوب صحرای آفریقا و آمریکای لاتین بسیار محدود است[۵۶].

سطح زیر کشت برنج در ایران حدود ۶۰۰ هزار هکتار و تولید شلتوک ۳-۲/۹ میلیون تن می‌باشد[۵]. سیستم متداول آبیاری برنج به صورت غرقابی است که به آب فراوانی نیاز

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

دارد. کمبود آب و خشکسالی پتانسیل عملکرد برنج را محدود کرده و در دسترس بودن آب کافی برای رشد مناسب و بازده بالای برنج بسیار اهمیت دارد[۲۵]. زمان وقوع و طول دوره تنش عامل موثر دیگر بر میزان تولید برنج می‌باشد[۲۹]. براساس تحقیقات انجام‌شده پنجه‌دهی، گلدهی و آغاز خوشه‌دهی حساس‌ترین مراحل رشد گیاه برنج نسبت به تنش خشکی می‌باشند[۱]. گیاه برنج سازگاری کمی به شرایط محدودیت آب داشته و به تنش خشکی حساس است[۳۱].

تحقیقات متعدد نشان داده است که انواع مختلف ریزجانداران خاک رشد گیاهان را به‌خصوص در شرایط تنش بهبود می‌بخشند. ازاینرو یکی از راه‌های ممکن برای افزایش کارایی استفاده از آب و افزایش تحمل تنش خشکی تلقیح با ریزجانداران مفید می‌باشد [۱۲]. این جانداران در ریزوسفر گیاه کلونی تشکیل داده و از طریق سازوکارهای مستقیم و غیرمستقیم رشد گیاه را افزایش می‌دهند[۲۶]. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار تقریباً با ۸۰ درصد گونه‌های گیاهی همزیست شده و در تمامی اکوسیستم‌های خشکی وجود دارند. توسعه میکوریزایی و کلونیزاسیون ریشه به میزان زیادی سبب بهبود رشد و افزایش بقای گیاه در تنش خشکی می‌شود[۲۹]. گیاهان میکوریزه دارای مسیر مستقیم جذب آب توسط هیف‌های خارج سلولی هستند. علاوه بر این، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار تحمل خشکی گیاه میزبان را از طریق سازوکارهای فیزیولوژیکی جذب مواد غذایی و سازوکار های بیوشیمیایی مرتبط با سنتز هورمون‌ها، تنظیم اسمزی [۴۵] و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی[۴۱] افزایش می‌دهند. به این دلیل اینکه تصور می‌شد گیاهان آبزی و نیمه آبزی توسط قارچ‌های میکریز اشغال نمی‌شوند، تحقیقات در زمینه همزیستی میکوریزی در گیاه برنج اندک است. اما تحقیقات بعدی توانایی اشغال میکوریزایی بسیاری از گیاهان آبزی حتی گیاهانی که بطور کامل در آب غوطه ور هستند را نشان داده است[۱۷].

قارچ میکوریز گلوموس موسهآ (*Glomus mosseae*) در سراسر جهان پراکنده بوده و در محیط‌های کاملاً متفاوتی از جمله مزارع برنج وجود دارد[۴۸]. فراوانی و غالب بودن گونه‌های گلوموس در خاک‌های کشاورزی نیز نشان داده شده است[۴۲]. گونه‌های قارچ گلوموس قادر به اشغال سریع ریشه‌های گیاه میزبان بوده و در برابر اختلالات مختلف خاک مانند شوری، فلزات سنگین، خشکی، سرما و غیره مقاوم هستند. بنابراین مطالعات همزیستی عمدتاً بر گونه‌های گلوموس متکی بوده و از آن در تهیه مایه‌های تلقیح تجاری و نیز به‌عنوان گونه‌های مدل در مطالعات کاربردی و تنوع زیستی در ارتباط با همزیستی میکوریز آربوسکولار استفاده می‌شود[۴۹].

در مطالعه حاضر تاثیر تلقیح دو رقم مرسوم گیاه برنج با قارچ میکوریز گلوموس موسهآ بر پارامترهای موثر در افزایش تحمل به شرایط نامطلوب رطوبت خاک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

مواد گیاهی و کشت گیاه: بذرهای ارقام برنج طارم هاشمی به عنوان رقم کیفی معطر و نعمت به عنوان رقم اصلاح شده با عملکرد بالا [۲۲] که دارای سطح کشت گسترده در استان‌های شمالی کشور می‌باشند از کلکسیون برنج پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان تهیه شد. بذرها با اتانول ۷۰٪ به مدت یک دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۲٪ به مدت پنج دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر استریل بطور کامل شستشو شدند. بذرهای ضدعفونی شده در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰٪ قرار داده شده و پس از دو هفته گیاهچه‌های حاصل در گلدان‌های به ارتفاع ۳۰ و قطر ۲۰ سانتی‌متر، حاوی خاک استریل به وزن ۳۲۰۰ گرم کشت شدند. خاک مورد استفاده برای کشت گیاهچه‌ها از مزارع برنج جمع‌آوری و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد ضدعفونی شد. بر اساس نتایج آزمون

خاک، بافت خاک سیلتی-رسی-لومی (۴۵/۲ ٪ سیلت: ۳۷/۴ ٪ رس و ۱۷/۴ ٪ شن)، اسیدیته (pH) ۷/۸ و هدایت الکتریکی (EC) برابر با ۱/۷۸ دسی‌زیمنس بر متر بود. مقادیر پتاسیم و فسفر قابل جذب و درصد نیتروژن کل خاک به ترتیب ۲۱۰ و ۰/۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲/۴۷ ٪ اندازه‌گیری شد. همچنین، مقدار کربن آلی خاک نیز ۱/۴۳ ٪ بود. بر اساس آزمون خاک، توصیه کودی شامل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن،۱۰۰ کیلوگرم در هکتار پتاس و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفاته بود که عناصر غذایی به صورت محلول هوگلند تغییر یافته با ۲۵٪ فسفات به گلدان‌ها اضافه شد[۴۵].

قارچ میکوریز آربوسکولار و تلقیح گیاهچه‌های برنج: مایه تلقیح قارچ میکوریز آربوسکولار گلوموس موسهآ بصورت بستر حاوی اسپور و هیف قارچ و نیز قطعات کلونیزه شده ریشه‌ای از مرکز تحقیقات خاک و آب کرج تهیه و تعداد اسپور شمارش شد. چهل و هشت ساعت قبل از کشت گیاهچه‌ها، خاک گلدان‌ها به میزان ۲۰ گرم به ازای هر کیلوگرم خاک با مایه تلقیح قارچ مخلوط و ۲۴ ساعت قبل از کشت، گلدان‌ها آبیاری و خاک مرطوب و آماده شد [۴۵]. دو گیاهچه در هر گلدان کشت شد و پس از استقرار گیاهچه‌ها (۱۰ روز) گلدان‌ها تنک و تنها یک بوته در هر گلدان نگهداری شد. گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد با دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی حدود ۶۰٪ قرار گرفت. در حین رشد به هر یک از گلدان‌ها ۳۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند تغییریافته در سه مرحله شامل سه روز، دو هفته و یک ماه پس از کشت اضافه شد [۳۰].

اعمال تنش آبی: یک ماه پس از کشت، گلدان‌ها در حوضچه‌های آب قرار گرفته و برای حفظ حالت غرقاب آب حوضچه‌ها روزانه بررسی و در صورت نیاز آب اضافه شد. همزمان با مرحله پنجه‌دهی اعمال تیمار قطع آبیاری آغاز شد. برای این منظور گلدان‌های تیمارهای تنش از حوضچه‌های آب خارج شده و آبیاری متوقف شد. گیاهان شاهد در حوضچه‌ها باقی مانده و حالت غرقاب آنها حفظ شد. رطوبت خاک با دستگاه رطوبت‌سنج خاک مدل LUTRON PMS-714 اندازه‌گیری شد. مقدار رطوبت در حالت ظرفیت زراعی با استفاده از توابع انتقالی محاسبه گردید [۴۳]. نمونه‌برداری از گیاهان پس از رسیدن میزان رطوبت خاک به ۷۰٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی انجام شد. نمونه‌های گیاهی بطور کامل از خاک خارج شده و ریشه‌ها به آرامی با آب شسته شدند و سپس به سرعت در نیتروژن مایع منجمد شده و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری درصد همزیستی: برای اطمینان از کلونیزاسیون ریشه‌های برنج با قارچ میکوریز درصد همزیستی با استفاده از روش تغییر یافته کورمانیک و مک گراو (۱۹۸۲) تعیین شد [۳۶]. برای این منظور پس از رنگ‌آمیزی با تریپان‌بلو، ریشه‌ها به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شدند و سپس ۳۰ قطعه از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به طور تصادفی روی سطح پتری‌دیش شبکه بندی شده (۱cm ×۱cm) قرار گرفتند (روش تقاطع خطوط شبکه) و قطعات ریشه از نظر وجود اندام‌های قارچی در محل تلاقی خطوط افقی و عمودی کاغذ شطرنجی در زیر میکروسکوپ شمارش شده و درصد کلونیزاسیون تعیین گردید [۵۸].

اندازه‌گیری محتوای پرولین: برای سنجش پرولین از روش باتِس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد [۱۴]. به‌طور خلاصه، ۲۵۰ میلی‌گرم نمونه برگی پودر شده با دو میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیک ۳٪ هضم و در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول بالایی، یک میلی‌لیتر نینهیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال افزوده شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس به مدت

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

نیم ساعت روی یخ قرار داده شدند. به هر لوله دو میلی‌لیتر تولوئن اضافه شده و پس از تکان دادن و جداشدن دو فاز از یکدیگر، جذب فاز بالایی (حاوی تولوئن و پرولین) در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-1800 UV-Vis Double beam Spectrophotometer) قرائت شد.

اندازه‌گیری محتوای گلایسین‌بتائین: مقدار گلایسین‌بتائین با استفاده از روش گِریو و گِراتن (۱۹۸۳) اندازه‌گیری شد [۲۷]. ۲۵۰ میلی‌گرم پودر خشک گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به شدت تکان داده شد. نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شده و عصاره بدست آمده با اسید سولفوریک ۲ نرمال با نسبت ۱:۱ (حجمی/ حجمی) مخلوط و به مدت یک ساعت در آب یخ قرار داده شد. به ۵۰۰ میکرولیتر از مخلوط بدست آمده، ۲۰۰ میکرولیتر لوگول اضافه و به خوبی مخلوط شد. تیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز بالایی به ظرف جدید منتقل و به خوبی با ۹ میلی‌لیتر ۱و۲–دی‌کلرواتان مخلوط و پس از گذشت دو ساعت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۶۵ نانومتر با اسپکتروفنومتر اندازه‌گیری شد. غلظت‌های مختلف گلایسین بتائین در اسید سولفوریک یک نرمال (۵۰ تا ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) تهیه و برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

اندازه‌گیری محتوای فنل کل و تانن: به منظور سنجش محتوای فنلی کل به روش فولین سیوکالتو، ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه تر پودر شده توزین شده و به آن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ افزوده شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در بن ماری قرارگرفت. حجم نمونه‌ها مجدداً با اتانول ۸۰٪ به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از جداسازی محلول بالایی مجددا توسط الکل ۸۰٪ به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به ۵۰ میکرولیتر از محلول حاصل، ۲۵۰ میکرولیتر فولین سیوکالتو، ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱/۲۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم اشباع افزوده شد. لوله‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند و پس از جداسازی محلول بالایی جذب آنها در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد. از اسید گالیک (صفر تا صد میلی‌گرم در لیتر) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد.

برای اندازه‌گیری محتوای تانن، به یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی استخراج شده یک میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میلی‌گرم پلی‌وینیل پیرولیدین اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه ورتکس شده و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از سانتریفیوژ نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه جذب محلول بالایی در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد. محتوای تانن با کم کردن مقادیر بدست آمده، که نشان دهنده محتوای ترکیبات فنلی غیرتاننی است، از مقدار فنل کل محاسبه و بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر گزارش شد [۳۸].

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز: برای تهیه عصاره گیاهی ۲۰۰ میلی‌گرم وزن تر از هر نمونه توزین و با استفاده از هاون سرد و چهار میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با pH برابر ۷ به‌خوبی همگن شد. مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و از محلول روئی برای اندازه‌گیری‌های آنزیمی استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز به روش میشرا و کار (۱۹۷۶) انجام شد. برای این‌منظور ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی به ۲۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر کتچول ۰/۵ مولار اضافه شد و میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه با فواصل ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد [۳۵].

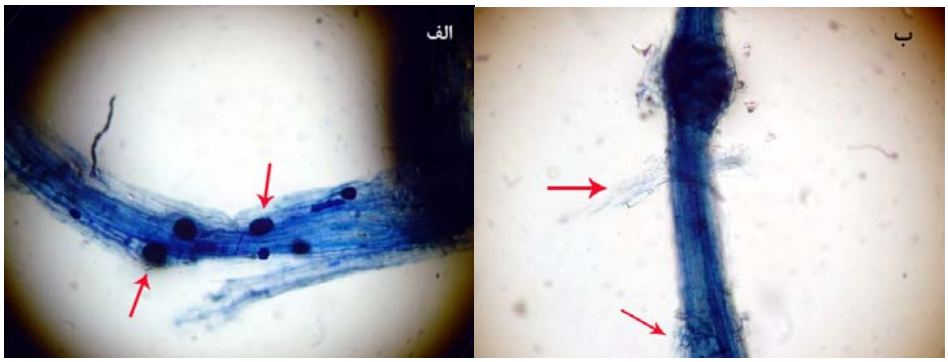
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۲۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۱٪ مخلوط و تغییرات میزان جذب در دو دقیقه با فواصل زمانی ۳۰ ثانیه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد [۵۵].

تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در شرایط گلخانه با استفاده از دو رقم برنج (طارم‌هاشمی و نعمت) بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح قارچ میکوریز (تلقیح قارچ و عدم تلقیح) و سه سطح شرایط آبی (بدون تنش یا غرقاب، ۷۰٪ ظرفیت زراعی خاک و ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک) با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۰ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج

تلقیح گیاهان با قارچ میکوریز آربوسکولار: ساختارهای مختلف قارچی نظیر کیسه‌ها و هیف قارچی در ریشه‌های رنگ آمیزی شده گیاهان برنج تلقیح شده با میکوریز مشاهده شد. حضور این اندام‌ها در داخل و سطح ریشه، بیانگر کلونیزاسیون این گیاه با قارچ میکوریز آربوسکولار می‌باشد (شکل ۱). درصد کلونیزاسیون برای رقم طارم هاشمی ۵۳/۱۸ و برای رقم نعمت ۴۹/۷۱ بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند.



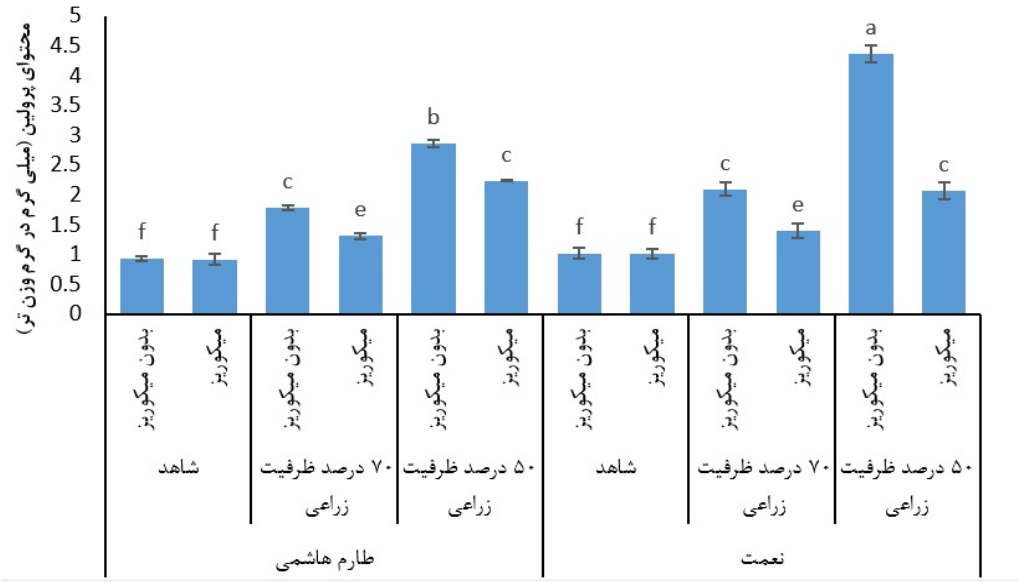
شکل ۱- ساختارهای قارچ میکوریز آربوسکولار گلوموس موسهآ در ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده گیاهان برنج ۳۰ روز پس از تلقیح. الف) کیسه‌ها درون ریشه و ب) هیف‌های برون ریشه‌ای قارچ میکوریز آربوسکولار (بزرگنمایی ۲۰ برابر).

تغییرات اسمولیت‌های آلی

پرولین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر رقم، میکوریز و شرایط آبی بر محتوای پرولین در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل رقم در میکوریز، رقم در تنش خشکی، میکوریز در تنش خشکی و اثر متقابل سه‌گانه رقم در میکوریز در تنش خشکی نیز بر میزان پرولین در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). تنش خشکی منجر به افزایش میزان پرولین در برگهای گیاه برنج شد و میزان پرولین در گیاهان تحت تنش در هر دو رقم نعمت و طارم هاشمی نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافت. تفاوت معنی‌دار میان محتوای پرولین در گیاهان میکوریزه نسبت به گیاهان غیرمیکوریزه در شرایط تنش خشکی وجود داشت و میزان پرولین در گیاهان میکوریزه کمتر بود. بیشترین مقدار آن در گیاهان غیر میکوریزه در تنش ۵۰ درصد طرفیت زراعی رقم نعمت با ۴/۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر مشاهده شد که حدودا دو برابر نسبت به گیاهان میکوریزه بیشتر بود. در همین شرایط میزان پرولین در گیاهان طارم هاشمی غیرمیکوریزه نیز بطور معنی‌داری بالاتر بود. بیشترین میزان پرولین در رقم طارم هاشمی در گیاهان میکوریزه (۲/۸۷ میلی گرم در گرم

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

وزن خشک) مشاهده شد که نسبت به گیاهان غیرمیکوریز به میزان ۱۰۹ درصد افزایش داشت. در شرایط آبی نرمال تلقیح با میکوریز بر میزان پرولین تاثیر معنی‌داری نداشت (شکل ۲).

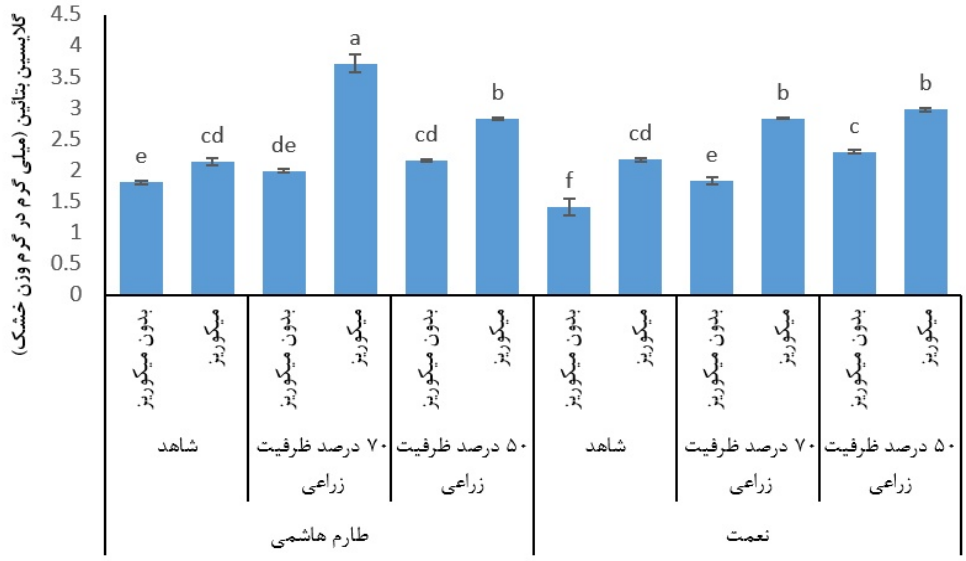


شکل ۲- تاثیر تنش آبی در سطوح ۷۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بر مقدار پرولین دو رقم برنج نعمت و طارم هاشمی میکوریزه و گیاهان غیرمیکوریزه در مقایسه با شرایط بدون تنش. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند. نوار خطا روی هر ستون برابر با خطای استاندارد می‌باشد.

گلایسین‌بتائین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر رقم، میکوریز و تنش آبی بر میزان گلایسین‌بتائین گیاه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل رقم در میکوریز، اثر متقابل میکوریز در تنش و اثر متقابل سه گانه رقم در میکوریز در تنش نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول۱و ۲).

در تمامی سطوح آبیاری گیاهان میکوریزه سطوح بالاتر گلایسین بتائین نسبت به گیاهان شاهد را نشان دادند. محتوای گلایسین بتائین رقم طارم میکوریزه بطور معنی‌داری بیشتر از محتوای این ترکیب در رقم نعمت میکوریزه تحت شرایط تنش بود. در شرایط آبی نرمال نیز تلقیح با میکوریز سبب افزایش معنی‌دار مقدار گلایسین بتائین در گیاهان میکوریزه نسبت به گیاهان غیرمیکوریزه شد. در شرایط تنش مقدار گلایسین بتائین در گیاهان میکوریزه بالاتر از گیاهان غیرمیکوریزه بود (شکل ۳). بیشترین میزان گلایسین بتائین در گیاهان میکوریزه رقم طارم هاشمی تنش ۷۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۳/۷۱ میلی گرم در گرم وزن خشک گیاه مشاهده شد که مقدار آن نسبت به گیاهان غیر میکوریزه به میزان ۹۲٪ افزایش یافت. بیشترین میزان گلایسین بتائین در رقم نعمت در تیمارهای تنش ۲/۹۷ (میلی گرم در گرم وزن خشک) در تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲/۸۳ (میلی گرم در گرم وزن خشک) در ۷۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد که میزان آن به ترتیب ۶۴ درصد و ۷۶/۵ درصد نسبت به گیاهان غیر میکوریز افزایش یافت.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1



شکل ۳- تاثیر تنش آبی در سطوح ۷۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بر مقدار گلایسین بتائین دو رقم برنج نعمت و طارم هاشمی میکوریزه و گیاهان غیرمیکوریزه در مقایسه با شرایط بدون تنش. ستونهای دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. نوار خطا روی هر ستون برابر با خطای استاندارد می‌باشد.

تغییرات محتوای فنل کل و تانن‌ها

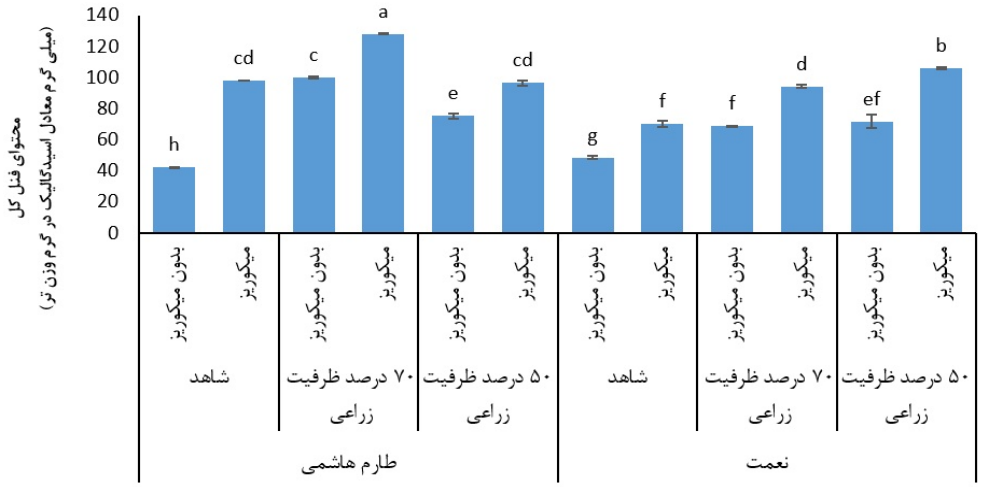
فنل کل: بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر رقم، میکوریز و تنش آبی بر میزان فنل کل در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل رقم در میکوریز و نیز اثر متقابل رقم در تنش بر میزان فنل کل گیاه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). اثر متقابل سه گانه رقم در میکوریز در تنش نیز بر میزان فنل کل در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۱).

تلقیح ارقام برنج با قارچ میکوریز گلوموس موسهآ سبب افزایش مقدار ترکیبات فنلی در هر دو شرایط شاهد و تنش شد. در شرایط تنش ۷۰٪ ظرفیت زراعی میزان ترکیبات فنلی در رقم طارم‌هاشمی میکوریزه بطور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بود. روند کلی تغییرات محتوای ترکیبات فنلی در هر دو سطح تنش مشابه بود، با این تفاوت که در سطح تنش ۷۰ درصد ترکیبات فنلی رقم طارم هاشمی از نعمت بالاتر بود و در سطح تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی محتوای ترکیبات فنلی رقم نعمت بطور معنی‌داری بیشتر از رقم طارم هاشمی بود (شکل۴).

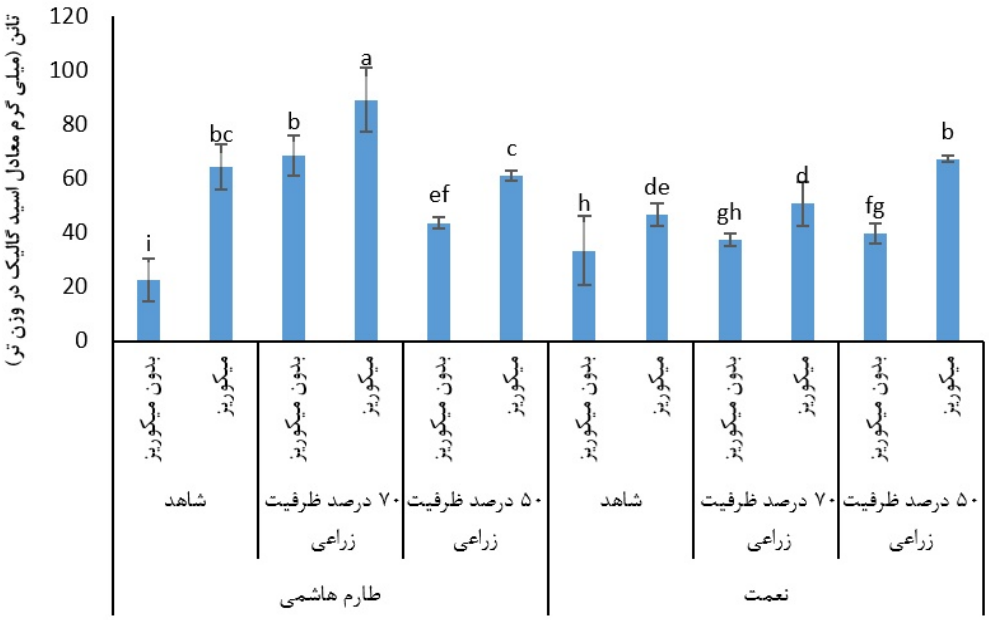
بیشترین میزان فنل در گیاهان طارم هاشمی میکوریزه در شرایط تنش ۷۰ درصد گلدهی به میزان ۱۲۸/۲ میلی گرم و پس از آن گیاهان نعمت میکوریزه در شرایط تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی ۱۰۵/۹ میلی گرم مشاهده شد.

تانن: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر رقم، میکوریز و تنش آبی، همچنین اثر متقابل میکوریز در تنش و اثر متقابل سه گانه رقم در میکوریز در تنش، بر میزان تانن گیاه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. اثر متقابل رقم در میکوریز و اثر متقابل رقم در تنش خشکی بر میزان تانن گیاه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. محتوای تانن در هر دو رقم برنج در نتیجه تلقیح با قارچ میکوریز افزایش یافت و بیشترین مقدار تانن در گیاهان میکوریزه تحت تنش مشاهده شد. بطور کلی گیاهان شاهد تلقیح شده با میکوریز سطوح تانن برابر (در رقم طارم هاشمی) و یا بیشتر (در رقم نعمت) نسبت به گیاهان غیرمیکوریزه تحت تنش داشتند (شکل ۵).

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1



شکل ۴- تاثیر تنش آبی در سطوح ۷۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بر مقدار فنل دو رقم برنج نعمت و طارم هاشمی میکوریزه و گیاهان غیرمیکوریزه در مقایسه با شرایط بدون تنش. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. نوار خطا روی هر ستون برابر با خطای استاندارد می‌باشد.

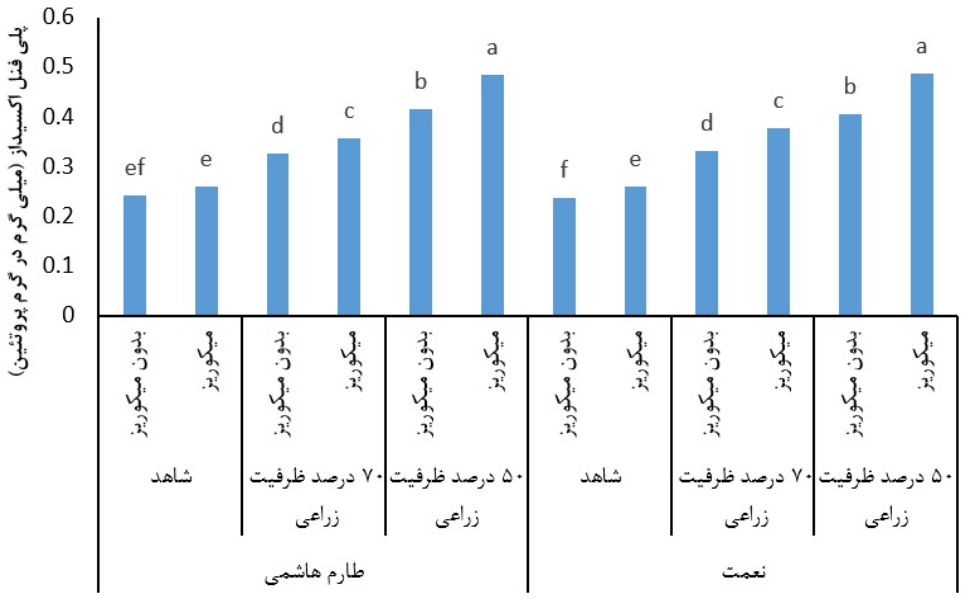


شکل ۵- تاثیر تنش آبی در سطوح ۷۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بر مقدار تانن دو رقم برنج نعمت و طارم هاشمی میکوریزه و گیاهان غیرمیکوریزه در مقایسه با شرایط بدون تنش. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. نوار خطا روی هر ستون برابر با خطای استاندارد می‌باشد.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر میکوریز و تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. در هر دو رقم تنش آبی سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط تنش شد. در سطوح آبیاری مختلف محتوای آنزیمی گیاهان میکوریزه دو رقم طارم هاشمی و نعمت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند. در هر دو رقم در تمامی سطوح آبیاری تلقیح گیاهان با میکوریز سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز شد بیشترین مقدار فعالیت آنزیمی در گیاهان میکوریزه تحت تنش در رقم طارم هاشمی و نعمت هر دو به میزان ۰/۴۸ میلی گرم در گرم پروتئین مشاهده شد. (شکل ۶).



شکل ۶- تاثیر تنش آبی در سطوح ۷۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بر مقدار آنزیم پلی فنل اکسیداز دو رقم برنج نعمت و طارم هاشمی میکوریزه و گیاهان غیرمیکوریزه در مقایسه با شرایط بدون تنش. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. نوار خطا روی هر ستون برابر با خطای استاندارد می‌باشد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: در هر دو سطح تنش، میزان آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در ارقام برنج میکوریزه نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر میکوریز و تنش خشکی بر میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود.. همچنین اثر متقابل میکوریز در تنش خشکی نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. اثر رقم بر میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی دار نبود بدین معنی که دو رقم از نظر میزان فعالیت آنزیم اختلاف معنی‌داری نداشتند. تنش خشکی در هر دو رقم موجب افزایش میزان آنزیم گایاکول‌پراکسیداز شد. در سطح تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نیز میزان بالاتر آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در گیاهان میکوریزه رقم طارم هاشمی در شرایط تنش ۵۰ درصد (۰/۴۴ میلی گرم در گرم پروتئین) و در گیاهان نعمت میکوریزه در شرایط تنش مشابه (۰/۴۳ میلی‌گرم در گرم پروتئین) مشاهده شد (شکل ۷).

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

شکل ۷- تاثیر تنش آبی در سطوح ۷۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بر مقدار آنزیم گایاکول پراکسیداز دو رقم برنج نعمت و طارم هاشمی میکوریزه و گیاهان غیرمیکوریزه در مقایسه با شرایط بدون تنش. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. نوار خطا روی هر ستون برابر با خطای استاندارد می‌باشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی دو رقم برنج نعمت و طارم هاشمی در شرایط تنش و تلقیح با قارچ گلوموس موسهآ.

Table 1. ANOVA of two rice varieties, Nemat and Tarom-Hashemi, traits under water stress and *Glomus mosseae* inoculation.

منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	گلایسین بتائین	فنول	تانن	پلی فنول اکسیداز	گایاکول پراکسیداز
خشکی	۲	۱۱/۲۹ **	۱۹۶۳۷/۶۹ **	۳۴۴۱۸۵/۷ **	۱۱۶۹۵۳/۲ **	۰/۰۵۱۰ **	۰/۱۱۸ **
رقم	۱	۰/۹۲۱ **	۳۱۳۷/۵۳ **	۱۶۲۲۰۱/۶ **	۱۳۶۹۶۶/۹ **	۰/۰۰۰۷۳ ns	۰/۰۰۰۲۹ ns
میکوریزا	۱	۴/۱۹۹۹ **	۶۶۶۸۵/۶۸ **	۸۶۹۸۹۳/۵ **	۴۴۶۴۹۵/۳ **	۰/۰۱۲ **	۰/۰۱۸۲ **
خشکی × میکوریزا	۲	۰/۲۷ **	۳۲۴۳/۳۶ **	۹۶۲۱۸/۸ **	۱۱۵۰۵۲/۶ **	۰/۰۰۰۳۵ ns	۰/۰۰۰۲۵ ns
رقم × میکوریزا	۲	۱/۵۹ **	۵۷۲۷/۸۳ **	۱۲۹۵۷/۳ **	۸۰۰۲/۵ *	۰/۰۰۰۵۲ ns	۰/۰۰۰۲۳ ns
خشکی × رقم	۲	۰/۸۸ **	۲۰۳/۲۸ ns	۱۴۵۷۹/۵ **	۱۶۱۲۸/۹ *	۰/۰۰۰۰۲۹ ns	۰/۰۰۰۰۱۸ ns
خشکی × میکوریزا × رقم	۲	۰/۶۲ **	۲۵۸۳/۷۱ **	۴۳۷۰۹/۵ *	۲۷۶۷۲/۸ **	۰/۰۰۰۲۸ ns	۰/۰۰۰۱۹ ns
خطا	۲۴	۰/۰۱۲	۱۲۹/۴	۸۱۵	۷۲۶	۰/۰۰۰۱۴	۰/۰۰۶
ضریب تغییرات		۲۵/۵۳	۲۶/۴۹	۲۱/۰۹	۲۱/۷۵	۱۵/۷۹	۱۵/۷۹

ns، * و ** به‌ترتیب بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار، وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

ns, * and ** represent non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد هر دو رقم طارم هاشمی و نعمت به ترتیب با درصد کلونیزاسیون ۵۳/۱۸ و ۴۹/۷۱ با قارچ میکوریز رابطه همزیستی برقرار کردند. در تحقیقات دیگر درصد کلونیزاسیون برنج با قارچ گلوموس موسهآ حدود ۵۳ درصد [۴۶] و همچنین ۴۸/۸ درصد گزارش شده است [۵۰].

در این بررسی میزان پرولین در تیمارهای تنش و نیز در گیاهان میکوریزه افزایش یافت. تجمع پرولین بیشتر در گیاهان تلقیح شده باعث افزایش ظرفیت تنظیم اسمزی برای مقابله با تنش خشکی می‌شود [۶۰]. علاوه بر این نقش پرولین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی و مهارکننده بالقوه مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی پیشنهاد شده است که بر این اساس می‌تواند در تثبیت پروتئین‌ها، کلات‌کردن یون‌های فلزی، ممانعت از پراکسیداسیون چربی و همچنین از بین بردن رادیکال‌های هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید نقش داشته باشد [۱۰]. تغییرات پرولین در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار تحت تنش آبی بررسی و در مواردی نتایج متناقضی گزارش شده است. مشابه نتایج بدست آمده در این پژوهش، تیساروم و همکاران نیز تجمع پرولین را در شرایط تنش خشکی در گیاهان برنج میکوریزه گزارش کردند [۵۳]. افزایش تجمع پرولین در کاهو [۱۳]، برنج [۴۷]، گوجه فرنگی [۱۹] ، یونجه [۲] و ماکادامیا تترافیلا [۵۹] تحت تنش خشکی در گیاهان میکوریزه نسبت به گیاهان غیرمیکوریزه مشاهده شده است. در تحقیق دیگر نیز افزایش معنی‌دار محتوای پرولین در گیاهان یونجه تلقیح شده با میکوریز نسبت به گیاهان شاهد (غیرمیکوریزه) در شرایط تنش خشکی گزارش شده است، با این وجود محتوای پرولین در گیاهان تلقیح شده با میکوریز و باکتری در مقایسه با گیاهان شاهد و گیاهانی که تنها با میکوریز تلقیح شده بودند، افزایش قابل توجهی نشان داد [۳].

با این حال، تجمع پایین پرولین در گیاهان فردوسی هندی [۳۹]، پسته [۷] و نارنج سه‌برگ [۵۹] تلقیح شده با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نسبت به گیاهان تلقیح نشده تحت تنش خشکی، گزارش شده است. سطح پایین‌تر پرولین در گیاهان تلقیح‌شده ناشی از مهار سنتز پرولین از مسیر گلوتامات و افزایش تخریب پرولین می‌باشد [۶۱]. مقدار کمتر پرولین در گیاهان میکوریزه همچنین نشان دهنده آسیب کمتر توسط تنش خشکی به دلیل وضعیت آب بهتر در گیاهان تلقیح شده و در نتیجه اجتناب از تنش خشکی می‌باشد. بنابراین تغییرات پرولین توسط میکوریزاسیون پاسخی برای تحمل یا اجتناب از خشکی می‌باشد [۱۰].

نتایج این پژوهش نشان داد گلایسین بتائین در تیمارهای تنش و گیاهان میکوریزه افزایش یافت. به نظر می‌رسد بین ترکیبات آمونیومی شناخته شده در گیاهان، در شرایط تنش گلایسین بتائین به میزان زیادی افزایش می‌یابد [۱۰]. مطالعات انجام شده بر روی پیاز و برنج نشان داده است که گلایسین‌بتائین علاوه بر نقش حفاظت کننده اسمزی باعث پایداری غشاها و فعالیت آنزیم‌ها و برخی از پروتئین‌ها می‌شود و بطور غیر مستقیم نیز از طریق هدایت علامت-دهی، سلول‌ها را از تنش‌های محیطی محافظت می‌کند [۱۱و ۴۰]. فغانی و همکاران (۱۳۸۹) افزایش میزان گلایسین بتائین را در گیاه *Sesbania aculeate* همزیست با قارچ میکوریز را در شرایط تنش خشکی گزارش کرده-اند. نتایج آن‌ها بیشترین میزان گلایسین‌بتائین در تیمار تلقیح شده با قارچ میکوریز تحت تنش و کمترین میزان آن در شرایط آبیاری مطلوب در گیاهان میکوریزه نشده نشان داد که با نتایج این تحقیق هم‌راستا می‌باشد [۴]. در گیاه شنبلیله در شرایط تنش اسمزی در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ میکوریز *Rizoglomus intaradices* نیز افزایش مقدار گلایسین‌بتائین مشاهده شد [۲۴]. در تحقیق دیگری میزان گلایسین‌بتائین در گیاهان نِی تلقیح شده با میکوریز در

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

شرایط تنش اسمزی دو برابر بیشتر از گیاهان غیر میکوریزه گزارش شده است [۶].

ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که به سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن کمک کرده و رادیکال‌های آزاد را قبل آسیب رساندن به سلول خنثی می‌کنند. بر اساس نتایج تحقیقات متعددی که در زمینه تحمل گیاهان به تنش انجام شده، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاه به غلظت ترکیبات فنلی و تانن بستگی دارد [۱۵ و ۳۲]. نتایج این بررسی نشان داد میزان ترکیبات فنلی و تانن در شرایط تنش خشکی و در گیاهان میکوریزه افزایش یافت. در شرایط تنش، قارچ‌های میکوریز پاسخ گیاه به تنش اکسیداتیو را از طریق افزایش تولید ترکیبات فنلی بهبود می‌دهند. افزایش ترکیبات فنلی در شرایط تنش در گیاهان گل آهار [۲۸]، گل بنفشه [۶۲]، کنگر فرنگی[۱۶] انگور [۲۳]، گوجه فرنگی [۳۴] و خیار [۱۸] تلقیح شده با میکوریز گزارش شده است.

افزایش میزان ترکیبات فنلی و تانن پس از تلقیح گیاه با قارچ‌های میکوریز گلوموس موسهآ در ریحان توسط توساینت و همکاران گزارش شده است [۵۴]. همچنین در مطالعه رابطه همزیستی قارچ‌های میکوریز با یک رقم کاهو و نیز گیاه سنبل‌الطیب تجمع ترکیبات فنلی و تانن در برگ‌ها مشاهده شده است [۱۳ و ۳۲]. در گیاه *Commiphora leptophloleos* نیز میزان ترکیبات فنلی و تانن در برگ‌های گیاهان میکوریزه بطور معنی داری بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزه بوده است [۲۰]. در گیاهان چچم نیز تلقیح گیاهان با میکوریز افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان تلقیح شده، در شرایط تنش خشکی مشاهده شده است [۳۷].

پلی فنل اکسیدازها آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حاوی مس می‌باشند که به وفور در گیاهان یافت می‌شوند. این آنزیم از مولکول اکسیژن برای اکسید کردن ترکیبات ارتو دی فنلی همچون اسید کافئیک و کاتچول استفاده کرده و آنها را به کینون تبدیل می‌کند. کینون‌های تشکیل دهنده آنزیم بسیار فعال بوده و ممکن است باعث پیوند متقاطع شده یا آلکیلات پروتئین تولید کند که منجر به قهوه‌ای شدن بافت‌های آسیب دیده و عصاره‌های گیاهی می‌شود [۲۱].

فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر می‌تواند ناشی از مقدار بیشتر ترکیبات فنلی و تانن‌ها باشد که رابطه مثبت شناخته شده‌ای با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی دارند [۳۲]. در این بررسی میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط تنش خشکی و در گیاهان میکوریزه افزایش یافت. تحت شرایط تنش خشکی میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون پلی فنل اکسیداز در برگ‌های گیاه کنگر فرنگی افزایش یافت[۴۴]. همچنین در گیاهان گل گندمی (*Cholorophtum borivilianum*) تلقیح شده یا میکوریز در شرایط تنش خشکی میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به گیاهان تلقیح نشده بالاتر بود [۵۱].

گایاکول پراکسیدازها گلیکوپروتئین‌هایی هستند که فنل‌ها را بعنوان دهنده هیدروژن مصرف کرده و در فرایندهای نمو، لیگنین‌سازی، بیوسنتز اتیلن، دفاع و التیام زخم‌ها شرکت می‌کنند[۵۲]. گایاکول پراکسیداز نقش مهمی در از بین بردن پراکسیدهیدروژن در سلول دارد. در این پژوهش افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمارهای تنش خشکی و گیاهان میکوریزه مشاهده شد. همچنین مطالعات قبلی افزایش فعالیت پراکسیدازها با تنش خشکی و دیگر تنش‌های محیطی را نشان داده است [۳۶]. در شرایط تنش‌های آبی، افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برنج گزارش شده است[۳۳]. همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش آبی در برگ‌های برنج همزیست با قارچ تریکودرما مشاهده شده است [۵۵]. میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاهان رُز همزیست شده با قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intradices* در شرایط تنش خشکی افزایش یافت [۹]. در مطالعه‌ای بر روی گیاه ارس چینی تلقیح با قارچ‌های میکوریز *G. mosseae*، *G. intradices* و *G. Deserticola* افزایش فعالیت پراکسیدازها در شرایط تنش خشکی نشان

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

داده شده و میزان افزایش آنزیم‌ها در گیاهان میکوریزه نسبت به گیاهان غیر میکوریزه بالاتر بوده است [۸]. همچنین تلقیح گیاهچه‌های نارنج با *G. mosseae* موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله گایاکول پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش آبی شده است [۵۷].

نتیجه‌گیری

بطور کلی گیاهان برنج تلقیح شده با میکوریز نسبت به گیاهان تلقیح نشده محتوای اسمولیت‌های آلی، ترکیبات فنلی و تانن بالاتری در شرایط تنش داشتند. همچنین مطالعه حاضر نشان می‌دهد که کلونیزاسیون با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با افزایش تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به افزایش تحمل گیاه در شرایط تنش کمک می‌کند. ازاینرو تحت شرایط تنش، قارچ‌های میکوریز به عنوان محرک‌های زیستی می‌توانند باعث افزایش پتانسیل تحمل تنش خشکی، تخفیف اثرات نامطلوب شرایط تنش و در نتیجه بهبود عملکرد در گیاه شود.

سپاسگزاری

از همه حمایت‌های مادی و همکاری‌های پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری قدردانی می‌شود. از سرکار خانم دکتر الهام فغانی، موسسه تحقیقات پنبه کشور نیز کمال تشکر را داریم.

منابع

۱- بابازاده، ش. م.، کاووسی، م.، اسفندیاری، م. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر مقادیر مختلف نیتروژن و نحوه مصرف آن بر عملکرد و اجزای عملکرد برنج هیبرید (دیلم). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. جلد ۹. شماره ۴. صفحه ۷۲۸ تا ۷۳۴.

۲- ظفری. م. عبادی، ع، جهانبخش گده کهریز. ۱۳۹۷. اثر توأم قارچ و باکتری بر افزایش اسمولیتهای سازگاری در یونجه تحت تنش کم‌آبی. مجله پژوهش‌های گیاهی (۱)۳۱.

۳- علیخانی، س. و محمودی زرندی. م. ۱۳۹۸. اثر مایه زنی توام قارچ اندومیکوریز و باکتریهای ریزوبیوم ملیلوتی و سودوموناس آئروژینوزا برگیاه یونجه *Medicago sativa* در شرایط تنش آبی. مجله پژوهشهای گیاهی (۱) ۳۲.

۴- فغانی، ا.، گودرزی م.، صفرنژاد، ع. ۲۰۱۵. اثرات همزیستی میکوریزا بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی سسبانیا در تنش کم آبی. نشریه پژوهش‌های کاربردی زراعی. (۱۰۶)۲۸. صفحه ۴۴-۳۷.

5- (FAO)., F.a.A.o., Fao statistical data base (available at www.fao.org). 2009.

6- AA-Garni S (2006) Increasing NaCl-salt tolerance of a halophytic plant Phragmites australis by mycorrhizal symbiosis. American-Eurasian J Agric & Environ Sci, 1:119-126.

7- Abbaspour H, Saeidi-Sar S, Afshari H (2012) Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings to drought stress under glasshouse conditions. J Plant Physiol, 169:704-709.

8- Alguacil M, Caravaca F, Diaz-Vivancos P, Hernández JA, Roldán A. (2006) Effect of arbuscular mycorrhizae and induced drought stress on antioxidant enzyme and nitrate reductase activities in *Juniperus oxycedrus* L. grown in a composted sewage sludge-amended semi-arid soil. Plant and soil, 279(1-2):209.

9- Amiri R, Nikbakht A, Etemadi N. (2015) Alleviation of drought stress on rose geranium [*Pelargonium graveolens* (L.) Herit.] in terms of antioxidant activity and secondary metabolites by mycorrhizal inoculation. Scientia Horticulturae, 197(14):373-380.

10- Ashraf M, Foolad MR. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environ Exp Bot, 59(2):206-216.

11- Bajaj S, and Mohanty A. (2005) Recent advances in rice biotechnology-towards genetically superior transgenic rice. Plant Biotechnology Journal, 3(3):275-307.

12- Barea JM, Azcón R, Azcón-Aguilar C. (2005) Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure, in Microorganisms in soils: roles in genesis and functions. Springer, 195-212.

13- Baslam M, Goicoechea N. (2012) Water deficit improved the capacity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of antioxidant compounds in lettuce leaves. Mycorrhiza, 22:347-359.

14- Bates LS, Waldren R.P, Teare I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39(1):205-207.

15- Bhatt ID, Dauthal P, Rawat S, Gaira, KS, Jugran RA, and Dhar U. (2012) Characterization of essential oil composition, phenolic content, and antioxidant properties in wild and planted individuals of *Valeriana jatamansi* Jones. Sci. Horticult, 136:61-68.

16- Ceccarelli NC, Martelloni L, Sbrana C, Picciarelli P. and Giovannetti M. (2010) Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant. Plant Soil, 335:311-323.

17- Chaubal RSG, Mishra RR (1982) vesicular-arbuscular mycorrhiza in subtropical aquatic and marshy plant communities. Proc Indian Acad Sci (Plant Sci), 91:69-77.

18- Chen S JW, Liu A, Zhang S, Liu D, Wang F, Lin X, He C. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) increase growth and secondary metabolism in cucumber subjected to low temperature stress. Scie Horti, 160:222-229.

19- Chitarra W, Pagliarani C, Maserti B, Lumini E, Siciliano I., Cascone P, Schubert A, Gambino G, Balestrini R and Guerrieri E. (2016). Insights on the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on tomato tolerance to water stress. Plant Physiology, 171(2):1009-1023.

20- Cleilton Santos L, Hicaro Ribeiro SS, Albuquerquec, UP, Fábio Sérgio Barbosa da Silvaa. (2017) Mycorrhizal symbiosis increase the level of total foliar phenols and tannins in *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J.B. Gillett seedlings. Industrial Crops & Products, 104:28-32.

21- Constabel CP, Barbehenn R, (2008) Defensive Roles of Polyphenol Oxidase in Plants. Vol. Induced Plant Resistance to Herbivory, Schaller A. (eds).

22. Danesh Gilevaei M, Samizadeh Lahigi H, Rabiei B. (2018) Genetic diversity analysis of recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite markers. Iranian journal of Genetics and Plant Breeding, 7(2):42-53.

23- Eftekhari M, Alizade M, Ebrahimi P. (2012) Evaluation of the total phenolics and quercetin content of foliage in mycorrhizal grape (*Vitis vinifera* L.) varieties and effect of postharvest drying on quercetin yield, Ind Crop Prod. 38:160-165.

24- Evelin H, and Kapoor R. (2014) Arbuscular mycorrhizal symbiosis modulates antioxidant response in salt-stressed *Trigonella foenum-graecum* plants. Mycorrhiza, 24(3):197-208.

25- Fahad S, Adnan M, Noor M, Arif M, Alam M, Khan IA, and Basir A. (2019) Major Constraints for Global Rice Production. In Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance. Woodhead Publishing:1-22.

26- Glick BR. (1995) The enhancement of plant growth by free living bacteria. Can. J. Microbiol, 41:109-114.

27- Greive Ca, Grattan SR, (1983) Rapid assay for determination of water-soluble quaternary amino compounds. Plant Soil, 70:303-307.

28- Heidari Z and Nazari deljoo MJ. (2014) Improvement of morpho-physiological traits and antioxidant capacity of zinnia (*Zinnia elegance* Dreamland Red) by arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) inoculation. Int J Adv Biol Biomed Res, 2:2627-2631.

29- Hernandez JA, Angeles Ferrer M, Jimenez A, Ros Barcelo A, Sevilla F. (2001) Antioxidant Systems and O2.−/H2O2 Production in the Apoplast of Pea Leaves. It's Relation with Salt-Induced Necrotic Lesions in Minor Veins. Plant Physiol, 127:817-831.

30- Hoagland DR. and Arnon DI. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. Calif Agric Exp Station Circular, 1-32.

31- Jongdee B, Fukai S, Cooper M. (2002) Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice. Field Crops Research, 76(2-3):153-163.

32- Jugran A, Rawat, S, Dauthal P, Mondal S, Bhatt ID, Rawal RS, (2013) Association of ISSR markers with some biochemical traits of *Valeriana jatamansi. Jones*. Ind. Crop Prod, 44: 671-676.

33- Kamoshita A, Babu RC, Boopathi NM, and Fukai S. (2008) Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. Field crops research, 109(1-3):1-23.

34- Kapoor R. (2008) induced resistance in mycorrhizal tomato is correlated to

concentration of Jasmonic Acid. J. Biol. Sci, 8:49-56.

35- Kar M. and Mishra D. (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant physiology, 57(2):315-319.

36- Kormanik PP, Mc Graw AC. (1982) Quantification of VA mycorrhizae in plant roots. Methods and Principles of Mycorrhizal Research. Am Phytopathol. Soc, Schenck NC (ed): p. 37-45.

37- Lee BR, Munner S, Jung W J, Avice JC, Ourry A, Kim TH. (2012) Mycorrhizal colonization alleviates drought□induced oxidative damage and lignification in the leaves of drought□stressed perennial ryegrass (*Lolium perenne*) Physiol Plant, 145(3):440-449.

38- Makkar HP, Blümmel M, Borowy NK and Becker K. (1993) Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. Journal of the Science of Food and Agriculture, 61(2):161-165.

39- Manoharan PT, Shanmugaiah V, Balasubramanian N, Gomathinayagam S, Sharma MP, Muthuchelian K. (2010) Influence of AM fungi on the growth and physiological status of Erythrina variegata Linn. Grown under different water stress conditions. Eur J Soil Biol, 46:151-156.

40- Meloni DA, Gulotta MR, Martínez CA, Oliva MA. (2004). The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. Plant Physiology, 16:39-46.

41. Nadeem SM et al. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. Biotechnology advances, 32(2):429-448.

42- Oehl, F, Sieverding E, Ineichen K, Mäder P, Boller T. and Wiemken A. (2003) Impact of land use intensity on the species diversityof arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. Appl Environ Microbiol, 69:2816-2824.

43- Rawls WJ and Brakensiek DL. (1985) Prediction of soil water properties for hydrologic modeling. In: E. Jones and T. J. Ward (eds.) Watershed Management in the Eighties, Proceedings of a Symposium ASCE. 30 Apr.- 2 May. p. 293-299.

44- Rezazadeh A, Ghasemnezhad A, Barani M, Telmadarrehei T. (2012) Effect of salinity on phenolic composition and antioxidant activity of artichoke (Cynara scolymus L.) leaves. Res J Med Plant, 6:245-252.

45- Ruiz-Lozano JM. (2003) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. Mycorrhiza, 13(6):309-317.

46- Ruiz-Sánchez M, Aroca R, Muñoz Y, Polón R, Ruiz-Lozano JM. (2010) The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress. J Plant Physiol, 167:862-869.

47- Ruíz-Sánchez M, Armada E, Muñoz Y, de Salamone IEG, Aroca R, Ruíz-Lozano JM. and Azcón R. (2011) Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. J Plant Physiol, 168(10):1031-1037.

48- Secilia J, Bagyaraj DJ. (1994) Selection of efficient vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for wetland rice - a preliminary screen. Mycorrhiza. 4:265-268.

49- Smith SE, and Read DJ. (2010) Mycorrhizal symbiosis. Academic press.

50- Solaiman MZ, Hirata H, (1996) Effectiveness of arbuscular mycorrhizal colonization at nursery-stage on growth and nutrition in wetland rice (*Oryza sativa* L.) after transplanting under different soil fertility and water regimes. Soil Sci Plant Nutr, 42:561-71.

51.Tarafdar J, Sushma D. (2012) Arbuscular mycorrhizal fungi encourage the drought tolerance of *Chlorophytum borivilianum*, by enhancing antioxidant enzyme system. Appl Biol Res, 14:60-70

52. Tayefi-Nasrabadi H, Dehghan G, Daeihassani B, Movafegi A. and Samadi A. (2011) Some biochemical properties of guaiacol peroxidases as modified by salt stress in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive safflower (*Carthamus tinctorius* L. cv.) cultivars. Afr J Biotechnol, 10(5):751-763.

53.Tisarum R, Theerawitaya C, Samphumphuang T, Phisalaphong M, Singh HP, Cha-um S. (2019) Promoting water deficit tolerance and anthocyanin fortification in pigmented rice cultivar (*Oryza sativa* L. subsp. indica) using arbuscular mycorrhizal fungi inoculation. Physiol Mol Biol Plant, 25(4):821-835.

54- Toussaint JP, Kraml M, Nell M, Smith SE, Smith FA, Steinkellner S, Schmiderer C, Vierheilig H, Novak JE. (2008) Effect of *Glomus mosseae* on concentrations of rosmarinic and caffeic acids and essential oil compounds in basil inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. basilici. Plant Pathol, 1109-1116.

55- Upadhyaya A, Sankhla D, Davis TD, Sankhla N. and Smith BN. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. J plant physiol, 121(5): 453-461.

56- Van Nguyen N, Ferrero A. (2006) Meeting the challenges of global rice production.

57- Wu QS, Zou YN. (2009) Mycorrhiza has a direct effect on reactive oxygen metabolism of drought-stressed citrus plant. Soil and Environ, 55 (10): 436-442.

58- Yu D. (1993) Vesicular Arbuscular Mycorrhiza. In: Carter, M. R. (ed.) Soil Sampling and methods of Analysis. Lewis Publisher.

59- Yooyongwech S, Phaukinsang N, Cha-Um S, Supaibulwatana K. (2013) Arbuscular mycorrhiza improved growth performance in Macadamia *tetraphylla L*. grown under water deficit stress involves soluble sugar and proline accumulation. J. Plant Growth Regul, 69: 285-293.

60- Zarei M, Paymaneh Z, Ronaghi A. (2016) The effects of arbuscular mycorrhizal fungus and water stress on some antioxidant enzymes activities and nutrients uptake of two citrus rootstocks. Iran Agric Res, 35(2): 19-26.

61- Zou YN, Wu QS, Huang YM, Ni QD, He XH. (2013) Mycorrhizal-mediated lower proline accumulation in Poncirus trifoliata under water defcit derives from the integration of inhibition of proline synthesis with increase of proline degradation. PLoS One. 8e80568.

62- Zubek S, Rola K, Szewczyk A, Majewska ML and Turnau K. (2015) Enhanced concentrations of elements and secondary metabolites in *Viola tricolor* L. induced by arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil, 390(1-2): 129-142.

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.13.1

The effect of *Glomus mosseae* symbiosis on physiological characteristics of two rice varieties under water deficit condition

Pourfarid A.[1], Pakdin-Parizi A.[1], Ghorbani-Nasrabadi R.[2] and Rahimian H.[3]

[1] Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, I.R. of Iran

[2] Dept/ of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran

[3] Dept. of Plant Pathology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, I.R. of Iran

Abstract

Arbuscular mycorrhizas are able to reduce the adverse effects of biotic and abiotic stresses on crops. To investigate the effect of inoculation with *Glomus mosseae* on physiological characteristics of two rice cultivars under water deficit conditions, an experiment was conducted in a randomized complete block design in the greenhouse. Irrigation conditions included flooding, stop irrigation up to 70% and 50% of field capacity. In general, in both groups of plants, inoculated and control plants (non-inoculated), increased levels of phenol, tannin, glycine and betaine, as well as polyphenol oxidase and guaiacol peroxidase enzymes were observed under water deficit conditions. However, the change amount of each trait in inoculated plants was significantly higher than the non-inoculated plants. In case of stopped irrigation up to 70% of field capacity, the amount of proline, antioxidant enzymes in Nemat cultivar was higher than Tarom Hashemi, while Glycine betaine, tannin and phenol content was higher in Tarom Hashemi than Nemat cultivar. In case of stopped irrigation up to 50% of field capacity, the amount of phenol, tannin, glycine and betaine as well as antioxidant enzymes in Nemat cultivar was higher than Tarom Hashemi, which can be a reason for different effects of arbuscular mycorrhizal colonization on the response of rice cultivars to water deficit conditions. Based on the results, it seems that inoculation of rice plant with mycorrhizal fungus can play a role in reducing the adverse effects of water deficit in case of water shortage conditions during the critical stages of plant growth.

Key words: rice, water stress, arbuscular mycorrhizae, organic osmolytes, antioxidant enzymes